



TITLE:

Podoplanin-expressing cancer-associated fibroblasts lead and enhance the local invasion of cancer cells in lung adenocarcinoma(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Neri, Shinya

CITATION:

Neri, Shinya. Podoplanin-expressing cancer-associated fibroblasts lead and enhance the local invasion of cancer cells in lung adenocarcinoma. 京都大学, 2017, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2017-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20230>

RIGHT:

Final publication is available at
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijc.29464/full>

京都大学	博士（医学）	氏 名	禰里 真也
論文題目	Podoplanin-expressing cancer-associated fibroblasts lead and enhance the local invasion of cancer cells in lung adenocarcinoma (肺腺癌においてポドプラニン発現がん関連線維芽細胞はがん細胞を先導し局所浸潤を促進させる)		
(論文内容の要旨)			
<p><背景>がん微小環境は、がん細胞とその周囲の非がん細胞（線維芽細胞、血管構成細胞、単球など）から構成される。中でも線維芽細胞（がん関連線維芽細胞、CAF: cancer-associated fibroblast）は、非がん細胞中で最も豊富に存在する細胞であり、液性因子の分泌等によってがん細胞の浸潤を補佐する事が知られている。肺がん患者の外科切除標本において、膜タンパクである podoplanin(PDPN)が CAF に発現している症例では、脈管浸潤を高度に認め、予後不良である事が報告された。この現象の分子機構解明のためには、<i>in vitro</i> における評価モデルの確立が必要であると考え、蛍光ラベルしたがん細胞と CAF を共培養し、個々の細胞がコラーゲンゲルを浸潤していく過程を経時的に観察出来る実験系を構築した。その観察により、がん細胞がコラーゲンを浸潤する際、はじめに CAF がコラーゲン内を浸潤し、それによって出来たトンネルの中をがん細胞が浸潤していく事を発見した。この結果は、がん細胞の浸潤が CAF の浸潤能に一部依存している可能性を示唆するものであった。</p> <p><目的>以上より、PDPN(+)CAF は PDPN(-)CAF よりコラーゲンゲル内の浸潤能が高く、がん細胞がトンネル内に浸潤しやすい微小環境を形成している可能性を考えた。本研究における目的はその機構を解明する事である。</p> <p><方法>1) 肺腺癌より分離培養した CAF に PDPN を遺伝子導入し過剰発現株を作製。上記 <i>in vitro</i> 実験系を用いて、PDPN 過剰発現 CAF または control CAF とがん細胞を共培養し、CAF とがん細胞のコラーゲン浸潤能を経時的に評価する。2) CAF における PDPN の発現抑制により、がん細胞の浸潤促進をキャンセルできるか上記モデルを用いて検討する。3) PDPN によって活性化される CAF 内のシグナルを同定する。既に報告のある RhoA を中心に発現量や活性化を評価する。4) <i>in vivo</i> マウスモデルにおいて、PDPN 過剰発現 CAF ががん細胞の肺浸潤を促進させるか尾静脈から細胞を注射し肺実質への浸潤を検討する。5) I 期肺腺癌切除検体において、局所浸潤の先進部(胸膜浸潤)での PDPN 陽性 CAF とがん細胞の局在を検討する。</p> <p><結果>1) PDPN 過剰発現 CAF は有意にコラーゲンゲル内を浸潤し、がん細胞の浸潤も促進させた。2) shRNA により PDPN 発現を抑制したところ、CAF のコラーゲンゲル内浸潤は減少し、がん細胞の浸潤も抑えられた。3) PDPN は RhoA 活性を上昇させ、ミオシン軽鎖のリン酸化が亢進していた。ROCK 阻害薬投与により、CAF の浸潤は PDPN 過剰発現株で大幅に減少し、がん細胞の浸潤も抑制した。4) マウス実験では、PDPN 過剰発現 CAF は肺毛細血管内から肺実質へ浸潤しやすく、がん細胞の肺実質への浸潤も促進させた。5) I 期肺腺癌切除検体における浸潤先進部(胸膜浸潤)では、PDPN 発現 CAF を認める症例でがん細胞の胸膜浸潤所見を有意に多く認めた。さらにがん細胞が胸膜弾性板を浸潤する外側において、PDPN 発現 CAF を認める症例が多くみられた。</p>			

<p><結論>PDPN 発現 CAF はがん細胞の局所浸潤を先導して亢進させるがん促進的 CAF であり、CAF 自身の浸潤作用ががん細胞の浸潤を決定付ける因子の一つであると考えられた。</p> <p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>がん微小環境において、線維芽細胞は最も豊富に存在する間質細胞であり、がん関連線維芽細胞 (CAF: cancer-associated fibroblast)と呼ばれ、がん細胞の浸潤を補佐する事が知られている。本研究では蛍光標識したがん細胞と CAF を共培養し、コラーゲンゲル内の浸潤を経時的に観察出来る実験系を構築したところ、はじめに CAF がコラーゲン内を浸潤し、CAF により再構築されたトンネルの中をがん細胞が浸潤する形態を観察した。この結果はがん細胞の浸潤が CAF の浸潤能に一部依存している可能性を示した。臨床検体を用いた報告で、CAF に podoplanin(PDPN)が発現している症例では、脈管浸潤を高度に認め予後不良である事が示されている。以上より、PDPN(+)CAF は PDPN(-)CAF より浸潤能が高く、がん細胞が浸潤しやすい微小環境を形成していると仮説を立てて研究を進めた。<i>in vitro</i> 実験系において、PDPN 過剰発現 CAF は浸潤能が亢進し、がん細胞浸潤も促進させた。PDPN 発現を抑制した CAF の浸潤能は減少し、がん細胞浸潤も抑えられた。PDPN は細胞内で RhoA 活性化に関与し、その下流シグナルの ROCK 阻害薬を投与したところ CAF 浸潤能は PDPN 過剰発現株で著明に減少し、がん細胞の浸潤も抑制した。マウス実験では、PDPN 過剰発現 CAF は肺毛細血管内から肺実質へ浸潤しやすく、がん細胞の肺実質浸潤も促進させた。肺腺癌切除検体における局所浸潤先進部 (胸膜浸潤)では、PDPN 発現 CAF を認める症例でがん細胞の胸膜浸潤所見を有意に多く確認した。結論として、PDPN 発現 CAF はがん促進的 CAF であり、CAF 自身の浸潤作用ががん細胞の浸潤を決定付ける因子の一つであると考えられた。</p> <p>以上の研究はがん細胞の局所浸潤における間質細胞の促進的役割の解明に貢献し、間質細胞も標的としたがん治療の学術的基盤の構築に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 28 年 12 月 22 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
要旨公開可能日： 年 月 日 以降